

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo aislado que se une a la triptasa humana beta 1, o un fragmento de unión al antígeno de esta, donde el anticuerpo comprende las siguientes seis regiones hipervariables (HVR):

(a) una HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos DYGMV (SEQ ID NO: 7);

(b) una HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos FISSGSSTVYYADTMKG (SEQ ID NO: 2);

(c) una HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos RNYDDWYFDV (SEQ ID NO: 8);

(d) una HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos SASSSVTYMY (SEQ ID NO: 4);

(e) una HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos RTSDLAS (SEQ ID NO: 5); y

(f) una HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos QHYHSYPLT (SEQ ID NO: 6).

2. El anticuerpo de la reivindicación 1, donde el anticuerpo comprende (a) un dominio variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9 o una secuencia de aminoácidos que comprende 1 a 4 sustituciones, inserciones, o deleciones con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9; y (b) un dominio variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 o una secuencia de aminoácidos que comprende 1 a 4 sustituciones, inserciones, o deleciones con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10.

3. El anticuerpo de la reivindicación 1 o 2, que comprende además las siguientes regiones marco (FR) de dominio VH:

(a) una FR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos EVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGFTFS (SEQ ID NO: 11);

(b) una FR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos WVRQAPGKGLEWVA (SEQ ID NO: 12);

(c) una FR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos RFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCTR (SEQ ID NO: 13); y

(d) una FR-H4 que comprende la secuencia de aminoácidos WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 14).

4. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, donde el dominio VH comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9.

5. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, que comprende además las siguientes regiones marco FR de dominio VL:

(a) una FR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos DIQMTQSPSSLSASVG DRVITITC (SEQ ID NO: 15);

(b) una FR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos WYQQKPGKSPKPIY (SEQ ID NO: 16);

(c) una FR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos GVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO: 17); y

(d) una FR-L4 que comprende la secuencia de aminoácidos FGQG TKVEIK (SEQ ID NO: 18).

6. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, donde el dominio VL comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10.

7. Un anticuerpo aislado que se une a la triptasa humana beta 1, o un fragmento de unión al antígeno de esta, donde el anticuerpo comprende (a) un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9 y (b) un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10.

8. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-7, donde el anticuerpo comprende: (a) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 76 y (b) una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 77.

9. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-7, donde el anticuerpo comprende: (a) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 78 y (b) una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 79.

10. Un anticuerpo aislado que comprende (a) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 76 y (b) una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 77.
11. Un anticuerpo aislado que comprende (a) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 78 y (b) una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 79.
12. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-11, donde el anticuerpo se une a un epítipo de la triptasa humana beta 1 que comprende al menos dos, al menos tres o los cuatro residuos que se seleccionan del grupo que consiste en His51, Val80, Lys81 y Asp82 de la SEQ ID NO: 71.
13. El anticuerpo de la reivindicación 12, donde el anticuerpo se une a un epítipo de la triptasa humana beta 1 que comprende His51 y al menos uno, al menos dos o los tres residuos que se seleccionan del grupo que consiste en Val80, Lys81 y Asp82 de la SEQ ID NO: 71.
14. El anticuerpo de la reivindicación 12 o 13, donde el epítipo de la triptasa humana beta 1 comprende además uno o más residuos de aminoácidos que se seleccionan del grupo que consiste en Gln67, Leu83, Ala84, Ala85, Arg87, Pro103, Val104, Ser105, Arg106, Glu128, Glu129 y Pro130 de la SEQ ID NO: 71.
15. El anticuerpo de la reivindicación 14, donde el epítipo de la triptasa humana beta 1 comprende al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, al menos siete, al menos ocho, al menos nueve, al menos diez, al menos once o los doce residuos de aminoácidos que se seleccionan del grupo que consiste en Gln67, Leu83, Ala84, Ala85, Arg87, Pro103, Val104, Ser105, Arg106, Glu128, Glu129 y Pro130 de la SEQ ID NO: 71.
16. El anticuerpo de la reivindicación 14 o 15, donde el epítipo de la triptasa humana beta 1 comprende His51, Gln67, Val80, Lys81, Asp82, Leu83, Ala84, Ala85, Arg87, Pro103, Val104, Ser105, Arg106, Glu128, Glu129 y Pro130 de la SEQ ID NO: 71.
17. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 12-16, donde el epítipo se relaciona con un monómero o tetrámero de triptasa humana beta 1.
18. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 12-17, donde el epítipo se determina mediante un modelo de cristalografía de rayos X.

19. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-18, donde el anticuerpo es capaz de disociar tanto la interfaz pequeña de la triptasa humana beta 1 tetramérica como la interfaz grande de la triptasa humana beta 1 tetramérica.
20. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-10, donde el anticuerpo se une además a una triptasa de mono cynomolgus (cyno).
21. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-20, donde el anticuerpo se une además a la triptasa humana alfa.
22. El anticuerpo de la reivindicación 21, donde el anticuerpo se une además a la triptasa humana beta 2 o triptasa humana beta 3.
23. El anticuerpo de la reivindicación 22, donde el anticuerpo se une a la triptasa humana beta 2 y triptasa humana beta 3.
24. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-23, donde el anticuerpo se une a la triptasa con una K_D de 1 nM o menor.
25. El anticuerpo de la reivindicación 24, donde la K_D se mide a través de un ensayo de resonancia de plasmones superficiales.
26. El anticuerpo de la reivindicación 25, donde el anticuerpo se une a la triptasa con una K_D de 120 pM a 0.5 nM.
27. El anticuerpo de la reivindicación 26, donde el anticuerpo se une a la triptasa con una K_D de 120 pM a 300 pM.
28. El anticuerpo de la reivindicación 27, donde el anticuerpo se une a la triptasa con una K_D de 120 pM a 200 pM.
29. El anticuerpo de la reivindicación 28, donde el anticuerpo se une a la triptasa con una K_D de 180 pM.
30. El anticuerpo de la reivindicación 26, donde el anticuerpo se une a la triptasa con una K_D de 400 pM.
31. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-30, donde el anticuerpo puede inhibir la actividad enzimática de la triptasa humana beta 1.

32. El anticuerpo de la reivindicación 31, donde el anticuerpo inhibe la actividad de la triptasa con una IC_{50} de 2.5 nM o menor según se determina a través de un ensayo enzimático de triptasa humana beta mediante el uso de un péptido sintético S-2288 como sustrato.
33. El anticuerpo de la reivindicación 32, donde el anticuerpo inhibe la actividad de la triptasa con una IC_{50} de 550 pM a 2.5 nM.
34. El anticuerpo de la reivindicación 33, donde el anticuerpo inhibe la actividad de la triptasa con una IC_{50} de 500 pM a 2 nM.
35. El anticuerpo de la reivindicación 34, donde el anticuerpo inhibe la actividad de la triptasa con una IC_{50} de 550 nM a 1.5 nM.
36. El anticuerpo de la reivindicación 34, donde el anticuerpo inhibe la actividad de la triptasa con una IC_{50} de 500 pM a 700 pM.
37. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-36, donde el anticuerpo puede inhibir la actividad enzimática de la triptasa humana beta 1 a pH 6.
38. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-37, donde el anticuerpo es capaz de inhibir la estimulación mediada por triptasa de la proliferación celular del músculo liso bronquial y/o la contracción a base de colágeno.
39. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-38, donde el anticuerpo puede inhibir la liberación de histamina de mastocitos.
40. El anticuerpo de la reivindicación 39, donde el anticuerpo es capaz de inhibir la liberación de histamina desencadenada por IgE y/o la liberación de histamina desencadenada por triptasa.
41. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-40, donde el anticuerpo es capaz de inhibir la actividad de triptasa en muestras de lavado broncoalveolar (BAL) o nasosorción de mono cynomolgus.
42. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-41, donde el anticuerpo puede disociar la triptasa humana beta 1 tetramérica.
43. El anticuerpo de la reivindicación 42, donde el anticuerpo es capaz de disociar la triptasa humana beta 1 tetramérica cuando se encuentra en formato monovalente.

44. El anticuerpo de la reivindicación 43, donde el formato monovalente es un formato Fab.
45. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-44, donde el anticuerpo puede disociar la triptasa humana beta 1 tetramérica en presencia de heparina.
46. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-45, donde el anticuerpo es monoclonal.
47. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-45, donde el anticuerpo es humanizado.
48. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-47, donde el anticuerpo es un fragmento de anticuerpo que se une a triptasa humana beta 1.
49. El anticuerpo de la reivindicación 48, donde el fragmento de anticuerpo se selecciona del grupo que consiste en fragmentos Fab, Fab'-SH, Fv, scFv y (Fab')₂.
50. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-47, donde el anticuerpo es un anticuerpo de longitud completa.
51. El anticuerpo de la reivindicación 50, donde el anticuerpo es un anticuerpo IgG.
52. El anticuerpo de la reivindicación 51, donde el anticuerpo IgG es un anticuerpo IgG1.
53. El anticuerpo de la reivindicación 51, donde el anticuerpo IgG es un anticuerpo IgG4.
54. El anticuerpo de la reivindicación 53, donde el anticuerpo IgG4 comprende una mutación S228P (numeración EU).
55. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-54, donde el anticuerpo es un anticuerpo monoespecífico.
56. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-54, donde el anticuerpo es un anticuerpo multiespecífico.
57. El anticuerpo de la reivindicación 56, donde el anticuerpo es un anticuerpo biespecífico.

58. El anticuerpo de la reivindicación 57, donde el anticuerpo comprende un primer dominio de unión que se une a triptasa humana beta 1 y un segundo dominio de unión que se une a una segunda molécula biológica, donde la segunda molécula biológica se selecciona del grupo que consiste en interleucina-13 (IL-13), interleucina-4 (IL-4), interleucina-5 (IL-5), interleucina-17 (IL-17), IgE e interleucina-33 (IL-33).
59. El anticuerpo de la reivindicación 58, donde la segunda molécula biológica es IL-13.
60. El anticuerpo de la reivindicación 58, donde la segunda molécula biológica es IL-33.
61. El anticuerpo de la reivindicación 58, donde la segunda molécula biológica es IgE.
62. Un ácido nucleico aislado que codifica el anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-61 o un conjunto de ácidos nucleicos aislados que codifican en conjunto el anticuerpo.
63. Un ácido nucleico aislado que codifica un anticuerpo que comprende un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9 y/o un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 o un conjunto de ácidos nucleicos aislados que en conjunto codifican el anticuerpo, donde el ácido nucleico o conjunto comprende una secuencia que es al menos 90 %, al menos 95 % o al menos 99 % idéntica a la secuencia de la SEQ ID NO: 104 y/o la SEQ ID NO: 105.
64. El ácido nucleico de la reivindicación 62 o 63, donde el anticuerpo comprende (a) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 76 y/o (b) una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 77, y donde el ácido nucleico o conjunto comprende una secuencia que es al menos 90 %, al menos 95 % o al menos 99 % idéntica a la secuencia de la SEQ ID NO: 106 y/o la SEQ ID NO: 107.
65. El ácido nucleico de la reivindicación 62 u 63, donde el anticuerpo comprende (a) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 78 y/o (b) una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 79, y donde el ácido nucleico o conjunto comprende una secuencia que es al menos 90 %, al menos 95 % o al menos 99 % idéntica a la secuencia de la SEQ ID NO: 108 y/o la SEQ ID NO: 107.
66. El ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 62, 63 y 65, donde el ácido nucleico comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 108 y/o la SEQ ID NO: 107.
67. Un vector o conjunto de vectores que comprenden el ácido nucleico aislado o conjunto de ácidos nucleicos aislados de cualquiera de las reivindicaciones 62- 66.

68. Una célula huésped que comprende el vector o conjunto de vectores de la reivindicación 67.
69. La célula huésped de la reivindicación 68, donde la célula hospedadora es una célula de mamífero.
70. La célula huésped de la reivindicación 69, donde la célula de mamífero es una célula de ovario de hámster chino (CHO).
71. La célula huésped de la reivindicación 68, donde la célula hospedadora es una célula procariota.
72. La célula huésped de la reivindicación 71, donde la célula procariota es *E. coli*.
73. Un método para producir el anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-61, donde el método comprende cultivar la célula huésped de la reivindicación 68 en un medio de cultivo en condiciones adecuadas para permitir la producción del anticuerpo.
74. El método de la reivindicación 73, donde el método comprende además recuperar el anticuerpo de la célula hospedadora o el medio de cultivo.
75. Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-61 y un excipiente, portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.
76. La composición de la reivindicación 75, donde la composición se liofiliza.
77. La composición de la reivindicación 75, donde la composición es un líquido.
78. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 75-77, donde el excipiente es un antioxidante.
79. La composición de la reivindicación 78, donde la composición comprende uno o más antioxidantes seleccionados del grupo que consiste en N-acetiltriptófano, triptófano, metionina, cisteína, glutatión, tiosorbitol, ácido ascórbico, monotioglicerol, ciclodextrinas, Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico), piridoxina, manitol y un quelante metálico.
80. La composición de la reivindicación 79, donde la composición comprende N-acetiltriptófano y/o metionina.

81. La composición de la reivindicación 80, donde la composición comprende N-acetiltriptófano y metionina.

82. Una composición farmacéutica que comprende:

(i) un anticuerpo aislado que se une a la triptasa humana beta 1, o un fragmento de unión al antígeno de esta, donde el anticuerpo comprende las siguientes seis regiones hipervariables (HVR):

(a) una HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos DYGMV (SEQ ID NO: 7);

(b) una HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos FISSGSST VYYADTMKG (SEQ ID NO: 2);

(c) una HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos RNYDDWYFDV (SEQ ID NO: 8);

(d) una HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos SASSSVTYMY (SEQ ID NO: 4);

(e) una HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos RTSDLAS (SEQ ID NO: 5); y

(f) una HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos QHYHSYPLT (SEQ ID NO: 6), donde la oxidación de triptófano en la posición 6 de HVR-H3 (SEQ ID NO: 8) no es mayor que 30 %.

83. La composición de la reivindicación 82, donde la oxidación de triptófano en la posición 6 de HVR-H3 (SEQ ID NO: 8) se determina mediante una prueba de estrés de AAPH.

84. La composición de la reivindicación 82, donde la oxidación de triptófano en la posición 6 de HVR-H3 (SEQ ID NO: 8) se determina a menos de un año a partir de la producción inicial de la composición.

85. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 82-84, donde la oxidación de triptófano en la posición 6 de HVR-H3 (SEQ ID NO: 8) no es mayor que 28 %, 25 %, 20 %, 15 %, 10 % o 6 %.

86. La composición de cualquiera de 80-85, donde la composición comprende N-acetiltriptófano a una concentración de 0.1 mM a 5 mM.

87. La composición de la reivindicación 86, donde la concentración de N-acetiltriptófano es de 0.1 mM a 1 mM.

88. La composición de la reivindicación 87, donde la concentración de N-acetiltriptófano es de 0.3 mM.

89. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 80-88, donde la composición comprende metionina a una concentración de 1 mM a 20 mM.

90. La composición de la reivindicación 89, donde la concentración de metionina es de 1 mM a 10 mM.

91. La composición de la reivindicación 90, donde la concentración de metionina es de 5 mM.

92. Una composición farmacéutica que comprende:

(i) un anticuerpo aislado que se une a la triptasa humana, o un fragmento de unión al antígeno de esta, donde el anticuerpo comprende las siguientes seis regiones hipervariables (HVR):

(a) una HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos DYGMV (SEQ ID NO: 7);

(b) una HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos FISSGSST VYYADTMKG (SEQ ID NO: 2);

(c) una HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos RNYDDWYFDV (SEQ ID NO: 8);

(d) una HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos SASSS VTYMY (SEQ ID NO: 4);

(e) una HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos RTSDLAS (SEQ ID NO: 5); y

(f) una HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos QHYHSYPLT (SEQ ID NO: 6);

(ii) N-acetiltriptófano a una concentración de 0.1 mM a 1 mM; y

(iii) metionina a una concentración de 1 mM a 10 mM.

93. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 75-92, donde la concentración del anticuerpo es de 1 mg/ml a 250 mg/ml.

94. La composición de la reivindicación 93, donde la concentración del anticuerpo es de 150 mg/ml.

95. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 75-94, que comprende además uno o más excipientes adicionales seleccionados del grupo que consiste en un estabilizante, un amortiguador, un tensioactivo y un agente de tonicidad.

96. La composición de la reivindicación 95, donde la composición comprende además un amortiguador.

97. La composición de la reivindicación 96, donde el amortiguador comprende succinato de arginina y/o succinato de histidina.

98. La composición de la reivindicación 97, donde el amortiguador comprende succinato de arginina y succinato de histidina.

99. La composición de la reivindicación 97 o 98, donde la concentración de succinato de arginina es de 50 mM a 500 mM.

100. La composición de la reivindicación 99, donde la concentración de succinato de arginina es de 100 mM a 300 mM.

101. La composición de la reivindicación 100, donde la concentración de succinato de arginina es de 200 mM.

102. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 97-101, donde la concentración de succinato de histidina es de 1 mM a 50 mM.

103. La composición de la reivindicación 102, donde la concentración de succinato de histidina es 15 mM a 25 mM.

104. La composición de la reivindicación 103, donde la concentración de succinato de histidina es de 20 mM.

105. El método de cualquiera de las reivindicaciones 95-104, donde la composición comprende además un tensioactivo.
106. La composición de la reivindicación 105, donde el tensioactivo es poloxámero 188 o polisorbato 20.
107. La composición de la reivindicación 106, donde el tensioactivo es poloxámero 188.
108. La composición de la reivindicación 107, donde la concentración de poloxámero 188 es de 0.005 % a 0.1 %.
109. La composición de la reivindicación 108, donde la concentración de poloxámero 188 es 0.005 % a 0.05 %.
110. La composición de la reivindicación 109, donde la concentración de poloxámero 188 es de 0.02 %.
111. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 75-110, donde el pH de la composición es de 4.5 a 7.0.
112. La composición de la reivindicación 111, donde el pH de la composición es de 4.5 a 6.5.
113. La composición de la reivindicación 112, donde el pH de la composición es de 5.8.
114. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 75-113, donde la composición se encuentra en un recipiente a prueba de luz.
115. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 75-114, donde la composición se encuentra en una jeringa precargada.
116. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 75-115, donde la composición comprende además un antagonista de unión al eje de IL-13, un antagonista de unión al eje de IL-5, un antagonista de unión al eje de IL-33, un antagonista principal de M1, un antagonista de IgE, un antagonista de TRPA1, un antagonista de CRTH2, un broncodilatador o medicamento para el control de los síntomas del asma, un inmunomodulador, un corticosteroide, un inhibidor de la vía Th2, un inhibidor de tirosina cinasa o un inhibidor de fosfodiesterasa.

117. La composición de la reivindicación 116, donde el antagonista de unión al eje de IL-13 es un anticuerpo contra IL-13.
118. La composición de la reivindicación 117, donde el anticuerpo contra IL-13 es lebrikizumab.
119. La composición de la reivindicación 116, donde el antagonista de unión al eje de IL-5 es un antagonista de unión a IL-5 o un antagonista de unión al receptor de IL-5.
120. La composición de la reivindicación 116, donde el antagonista de unión al eje de IL-33 es un antagonista de unión a IL-33 o un antagonista de unión a ST2.
121. La composición de la reivindicación 120, donde el antagonista de unión a IL-33 es un anticuerpo anti-IL-33.
122. La composición de la reivindicación 116, donde el antagonista principal de M1 es quilizumab.